JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره یازدهم، شماره دوم، ۱۳۹۴، پیاپی ۳۱: ۱۱۷-۱۰۹

تعیین الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *اشریشیا کلی* جدا شده از جوجه‌های گوشتی سالم و مبتلا به کلی‌سپتی‌سمی در اهواز

رمضانعلی جعفری[۱]، رضا قنبرپور[۲]، مسعود قربان‌پور نجف‌آبادی[۳]، منصور میاحی[۴]، امیر امانی[۵*]

۱. دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲. استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳. استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴. استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵. دستیار تخصصی بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت:۲۷ خرداد ۱۳۹۳ *تاریخ پذیرش: ۸ مهر ۱۳۹۳*

چکیده

در هر منطقه، اطلاع از مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های بیماری‌زای شایع امری ضروری است. کلی‌باسیلوز طیور که ناشی از عفونت با اشریشیا کلی است، یکی شایع‌ترین بیماری‌های باکتریایی می‌باشد که به اشکال مختلف ظاهر شده و خسارت اقتصادی قابل توجهی را باعث می‌شود. مطالعه حاضر با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری اشریشیا کلی جدا شده از جوجه‌های گوشتی مرغداری‌های اطراف شهرستان اهواز انجام گرفت. بدین منظور، ۱۲۰ جدایه‌ی اشریشیا کلی از ۱۲ مزرعه‌ی پرورش جوجه گوشتی مورد بررسی قرار گرفت. پنجاه درصد جدایه‌ها از کبد جوجه‌های دارای علایم بالینی و جراحات کالبدگشایی کلی‌باسیلوز و ۵۰ درصد باقی‌مانده نیز از مدفوع جوجه‌های سالم همان مزارع (برای مقایسه) جمع‌آوری گردید. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی تمامی جدایه‌ها در برابر پنج آنتی‌بیوتیک مهم و رایج در صنعت طیور (داکسی‌سایکلین، فلورفنیکل، انروفلوکساسین، لینکوسپکتین و سولتریم) با استفاده از روش انتشار از دیسک (Disc diffusion) و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) مشخص گردید. نتایج نشان داد که در آزمایش انتشار از دیسک، بیشترین مقاومت به ترتیب نسبت به انروفلوکساسین (۹۰/۸٪)، فلورفنیکل (۸۳/۳٪)، داکسی‌سایکلین (۸۲/۵٪)، سولتریم (۷۴/۲٪) و لینکوسپکتین (۶۶/۷٪) و در آزمایش MIC نیز بیشترین مقاومت به ترتیب نسبت به انروفلوکساسین (۹۱/۷٪)، فلورفنیکل (۹۰٪)، داکسی‌سایکلین (۸۷/۵٪)، سولتریم (۷۱/۷٪) و لینکوسپکتین (۶۹/۲٪) مشاهده شد. براساس نتایج به دست آمده از هر دو روش آزمایش، میزان مقاومت جدایه‌های مدفوعی به طور معنی‌دار بیش از مقاومت جدایه‌های کبدی بود ($p<۰/۰۵$). تفاوت معنی‌داری میان نتایج روش انتشار از دیسک با روش MIC مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). از بین ۱۲۰ جدایه‌ی مورد آزمایش، ۸۸/۳ و ۹۰ درصد از آن‌ها به ترتیب در روش انتشار از دیسک و روش MIC نسبت به بیش از سه نوع آنتی‌بیوتیک به کار رفته در آزمایش مقاوم بودند (مقاومت دارویی چندگانه). با توجه به نتایج مطالعه حاضر، انجام آنتی‌بیوگرام پیش از هرگونه اقدام درمانی برای کلی‌باسیلوز طیور توصیه می‌گردد.

کلمات کلیدی: *اشریشیا کلی، جوجه گوشتی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، حداقل غلظت مهارکنندگی*

**نویسنده مسئول: امیر امانی*

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. تلفن: ۰۹۱۸۹۹۵۲۰۵۹

پست الکترونیک: a-amani@phdstu.scu.ac.ir و amiramani82@yahoo.com

مقدمه

باکتری *اشریشیا کلی* یکی از مهم‌ترین باکتری‌های دستگاه گوارش ماکیان است. حدود ۱۵-۱۰ درصد از جمعیت این باکتری را سویه‌های بیماری‌زا برای پرندگان Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) تشکیل می‌دهند (۹). کلی‌باسیلوز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های باکتریایی پرندگان اهلی است که در اثر عفونت موضعی یا سیستمیک با سویه‌های APEC ایجاد می‌شود و سالانه در دنیا خسارات زیادی به صنعت طیور وارد می‌نماید. سویه‌های APEC اغلب به دنبال عوامل مستعد کننده‌ی عفونی (ویروسی، باکتریایی، انگلی یا قارچی) یا غیر عفونی (تغذیه‌ای و ...) باعث ایجاد جراحات موضعی یا عمومی می‌گردند (۲). از زمان شناخت باکتری‌ها، بشر همواره در پی یافتن دارویی موثر بر عفونت‌های ناشی از آن‌ها بوده است و باکتری‌ها نیز به مکانیسم‌های موثری جهت از بین بردن آنتی‌بیوتیک‌ها دست یافته‌اند (۱). در طیور صنعتی نیز به منظور پیش‌گیری و درمان بیماری‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها در دوزهای درمانی و تحت‌درمانی از راه آب آشامیدنی یا مخلوط با دان تجویز می‌شوند (۱۵). این اقدام باعث کارآیی هر چه بهتر مواد غذایی و وزن‌گیری سریع‌تر می‌گردد (۳)، اما به هر حال تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها در طیور باعث ایجاد فشار انتخابی برای پیدایش و گسترش ژن‌های مقاومت می‌گردد و در نتیجه بسیاری از باکتری‌های مرتبط با فرآورده‌های طیور صنعتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند (۱۶ و ۲۱). پدیده‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی علاوه بر ایجاد اشکال در انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب برای درمان موارد بیماری، موجب انتشار باکتری‌های مقاوم به جوامع انسانی نیز می‌شود. بنابراین شناسایی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی شایع در طیور از اهمیت خاصی برای درمان عفونت‌ها برخوردار است و می‌تواند در جلوگیری از شکست درمان مفید باشد (۱۲). در مطالعه حاضر، حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *اشریشیا کلی* (بیماری‌زا و همزیست) حاصل از جوجه‌های گوشتی مرغداری‌های حومه‌ی اهواز در برابر پنج آنتی‌بیوتیک رایج در صنعت طیور ایران مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

در این مطالعه، ۱۲۰ جدایه *اشریشیا کلی* از ۱۲ مزرعه‌ی پرورش طیور گوشتی در حومه‌ی شهرستان اهواز جداسازی شدند. نمونه‌ها در سنین ۶-۳ هفتگی و از کبد پنج قطعه جوجه در هر مزرعه با نشانه‌های بالینی و جراحات کالبدگشایی کلی‌سپتی‌سمی گرفته شدند و برای مقایسه‌ی جدایه‌های بیماری‌زا با جدایه‌های غیر بیماری‌زا، پنج سواب کلواک نیز از پرندگان به ظاهر سالم هر مزرعه تهیه گردید (۶). ابتدا نمونه‌ها روی محیط آگار مک‌کانکی کشت داده شده و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند، سپس کلونی‌های تخمیر کننده‌ی لاکتوز جدا شده و مجدداً روی محیط آگار مک‌کانکی کشت داده می‌شدند تا کشت خالص و تعداد زیادی کلونی به دست آید. جهت تعیین هویت، یک کلونی از محیط آگار مک‌کانکی انتخاب شده و روی محیط Eosin-methylene blue (EMB) کشت داده می‌شد و در صورت تولید کلونی‌های دارای جلای سبز فلزی، جدایه‌ها در نهایت توسط تست‌های تفریقی بیوشیمیایی و بر اساس روش‌های استاندارد باکتریولوژیکی تعیین هویت می‌گردیدند. از هر نمونه، یک کلونی تعیین هویت شده برای انجام مراحل بعدی تحقیق انتخاب می‌شد. جدایه‌های تعیین هویت شده در محیط LB (لوریا برتانی براث) به همراه ۳۰ درصد گلیسرول تا

زمان انجام آزمایش در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد در حالت انجماد نگه‌داری می‌شدند (۱۷). میزان حساسیت تمامی جدایه‌ها در برابر پنج نوع آنتی‌بیوتیک رایج در صنعت طیور ایران (داکسی‌سایکلین، انروفلوکساسین، فلورفنیکل، لینکوسپکتین و سولتریم) به دو روش انتشار از دیسک و تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی Minimum inhibitory concentration (MIC)، مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش‌های انتشار از دیسک و MIC براساس دستورالعمل موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) سال ۲۰۰۶ انجام گرفت (۵). دیسک‌های مورد استفاده از شرکت پادتن طب ایران خریداری شدند و غلظت آن‌ها در جدول شماره ۱ آمده است.

برای انجام آزمایش انتشار از دیسک ابتدا جدایه‌ها از فریزر خارج شده و روی محیط آگار مغذی کشت گردیده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. از هر جدایه، در محیط Trypticase Soy Broth (TSB) سوسپانسیون باکتریایی با کدورت ۰/۵ مک‌فارلند تهیه گردید و با سواب استریل از سوسپانسیون فوق، روی محیط آگار مولرهینتون کشت چمنی داده شد. پس از گذشت تقریباً ۱۵ دقیقه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی روی محیط قرار داده شد و پلیت‌ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. با اندازه‌گیری قطر هاله‌ی مهار رشد اطراف هر دیسک، میزان حساسیت هر جدایه بر اساس جداول مربوطه در CLSI قرائت گردید. در این مطالعه برای تمامی موارد آزمایش حساسیت دارویی، از سویه *اشریشیا کلی* استاندارد با شماره‌ی ATCC25922 استفاده شد.

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) پنج آنتی‌بیوتیک مذکور برای تمامی جدایه‌های *اشریشیا کلی* به روش Microdilution (در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای درپوش‌دار) تعیین گردید. بدین منظور از محیط مولرهینتون براث (Merck, Germany) تنظیم‌شده (Adjusted) با کاتیون‌های Ca^{++} و Mg^{++} استفاده شد و غلظت سوسپانسیون باکتریایی نمونه‌های مورد آزمایش 5×10^5 CFU/well در نظر گرفته شد. پس از ۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، نتایج خوانده شد و MIC هر دارو برای هر یک از جدایه‌ها تعیین گردید. حداقل غلظتی از دارو که مانع رشد قابل رویت باکتری با چشم غیرمسلح می‌گردید، به عنوان MIC آن دارو در نظر گرفته می‌شد. همچنین، از *اشریشیا کلی* سویه‌ی ATCC25922 نیز به عنوان کنترل استفاده شد. پودر آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین و فلورفنیکل ساخت شرکت TEMAD، پودر داکسی‌سایکلین ساخت شرکت Sigma و پودر تریمتوپریم، سولفادیازین، لینکومایسین و اسپکتینومایسین به ترتیب ساخت شرکت‌های Nanyang ،Suzhou Wugan ،Shougang Fukang Shandong Lukang Shelile ،Pukang کشور چین بودند.

نتایج به دست آمده به کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۲ و با استفاده از آزمون مربع کای (Chi-Square) در سطح معنی‌داری $p\leq۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

نتایج آزمایش انتشار از دیسک در جدول شماره ۲ آمده است. در این جدول، مقاومت و حساسیت تمامی جدایه‌ها (مدفوعی و کبدی) به صورت کلی و به صورت مجزا (جدایه‌های مدفوعی و جدایه‌های کبدی) در مقابل داروها ذکر شده است. به طور کلی، بیشترین

مقاومت به ترتیب در برابر انروفلوکساسین، داکسی‌سایکلین، فلورفنیکل، سولتریم و لینکوسپکتین دیده می‌شود. در مورد جدایه‌های مدفوعی، بیشترین مقاومت به ترتیب نسبت به انروفلوکساسین، فلورفنیکل، سولتریم، داکسی‌سایکلین و لینکوسپکتین مشاهده گردید و در مورد جدایه‌های کبدی، بیشترین مقاومت به ترتیب در برابر انروفلوکساسین و داکسی‌سایکلین، فلورفنیکل، سولتریم و لینکوسپکتین دیده می‌شود.

نتایج آزمایش MIC در جدول شماره‌ی ۳ آمده است. در این جدول، مقاومت و حساسیت تمامی جدایه‌ها (مدفوعی و کبدی) به صورت کلی و به صورت مجزا (جدایه‌های مدفوعی و جدایه‌های کبدی) در مقابل داروها ذکر شده است. بیشترین مقاومت به ترتیب در برابر انروفلوکساسین، فلورفنیکل، داکسی‌سایکلین، سولتریم و لینکوسپکتین دیده شد. در مورد جدایه‌های مدفوعی، بیشترین مقاومت به ترتیب نسبت به انروفلوکساسین، فلورفنیکل، داکسی‌سایکلین، سولتریم و لینکوسپکتین مشاهده می‌گردد و در مورد جدایه‌های کبدی، بیشترین مقاومت به ترتیب در برابر فلورفنیکل، انروفلوکساسین و داکسی‌سایکلین، لینکوسپکتین و سولتریم دیده می‌شود. در آنالیز داده‌های مربوط به هر دو روش انجام گرفته، جدایه‌هایی که مقاومت متوسط نشان دادند به طور مساوی به عنوان حساس و مقاوم دسته‌بندی شدند.

آزمون مربع کای نشان داد که میزان مقاومت جدایه‌های مدفوعی در هر دو روش ارزیابی (انتشار از دیسک و MIC)، به طور معنی‌دار بیش از مقاومت جدایه‌های کبدی بود ($p\leq ۰/۰۵$). همچنین، تفاوت حساسیت در برابر داروها، در داخل هر گروه نیز معنی‌دار بود، یعنی برای مثال جدایه‌های کبدی در روش انتشار از دیسک، در برابر داروهای مختلف حساسیت متفاوت داشتند ($p\leq ۰/۰۵$). تفاوت در میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی در بین دو روش (انتشار از دیسک و MIC)، با یکدیگر معنی‌دار نبود ($p\geq ۰/۰۵$). تعداد (درصد) جدایه‌های مقاوم به بیش از سه آنتی‌بیوتیک در روش انتشار از دیسک و MIC به ترتیب ۱۰۶ (۸۸/۳۳ درصد) و ۱۰۸ (۹۰ درصد) بود.

فراوان‌ترین الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به ترتیب در برابر لینکوسپکتین/ سولتریم (۸/۳۳ درصد)، فلورفنیکل/ لینکوسپکتین/ سولتریم (۳/۳۳ درصد)، انروفلوکساسین/ لینکوسپکتین (۳/۳۳ درصد)، فلورفنیکل/ لینکوسپکتین (۲/۵ درصد) و داکسی‌سایکلین/ فلورفنیکل (۲/۵ درصد) دیده شد (جدول شماره ۴).

جدول ۱: دیسک‌های مورد استفاده در آزمایش و محتوای آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

نوع آنتی‌بیوتیک	محتوای دیسک (بر حسب میکروگرم)
داکسی‌سایکلین	30
انروفلوکساسین	5
فلورفنیکل	30
لینکوسپکتین	15/200
تریمتوپریم- سولفادیازین (با نام تجاری سولتریم)	1.25/23.75

جدول شماره ۲: فراوانی (درصد) کلی حساسیت ۱۲۰ جدایه‌ی *اشریشیا کلی* (مدفوعی و کبدی) جدا شده از ماکیان گوشتی در روش انتشار از دیسک

آنتی‌بیوتیک	۱۲۰ جدایه		جدایه‌های مدفوعی		جدایه‌های کبدی	
	حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)	مقاوم (درصد)
داکسی‌سایکلین	۲۱ (۱۷/۵)	۹۹ (۸۲/۵)	۱۲ (۲۰)	۴۸ (۸۰)	۹ (۱۵)	۵۱ (۸۵)
انروفلوکساسین	۱۱ (۹/۲)	۱۰۹ (۹۰/۸)	۲ (۳/۳)	۵۸ (۹۶/۷)	۹ (۱۵)	۵۱ (۸۵)
فلورفنیکل	۲۰ (۱۶/۷)	۱۰۰ (۸۳/۳)	۹ (۱۵)	۵۱ (۸۵)	۱۱ (۱۸/۳)	۴۹ (۸۱/۷)
لینکوسپکتین	۴۰ (۳۳/۳)	۸۰ (۶۶/۷)	۱۶ (۲۶/۷)	۴۴ (۷۳/۳)	۲۴ (۴۰)	۳۶ (۶۰)
سولتریم	۳۱ (۲۵/۸)	۸۹ (۷۴/۲)	۱۰ (۱۶/۷)	۵۰ (۸۳/۳)	۲۱ (۳۵)	۳۹ (۶۵)

جدول شماره ۳: فراوانی (درصد) کلی حساسیت ۱۲۰ جدایه *اشریشیا کلی* (مدفوعی و کبدی) جدا شده از ماکیان گوشتی در روش MIC

آنتی‌بیوتیک	۱۲۰ جدایه		جدایه‌های مدفوعی		جدایه‌های کبدی	
	حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)	مقاوم (درصد)
داکسی‌سایکلین	۱۵ (۱۲/۵)	۱۰۵ (۸۷/۵)	۷ (۱۱/۷)	۵۳ (۸۸/۳)	۸ (۱۳/۳)	۵۲ (۸۶/۷)
انروفلوکساسین	۱۰ (۸/۳)	۱۱۰ (۹۱/۷)	۲ (۳/۳)	۵۸ (۹۶/۷)	۸ (۱۳/۳)	۵۲ (۸۶/۷)
فلورفنیکل	۱۲ (۱۰)	۱۰۸ (۹۰)	۶ (۱۰)	۵۴ (۹۰)	۶ (۱۰)	۵۴ (۹۰)
لینکوسپکتین	۳۷ (۳۰/۸)	۸۳ (۶۹/۲)	۱۵ (۲۵)	۴۵ (۷۵)	۲۲ (۳۶/۷)	۳۸ (۶۳/۳)
سولتریم	۳۴ (۲۸/۳)	۸۶ (۷۱/۷)	۸ (۱۳/۳)	۵۲ (۸۶/۷)	۲۶ (۴۳/۳)	۳۴ (۵۶/۷)

جدول شماره ۴: شایع‌ترین الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *اشریشیا کلی*

الگو	نوع آنتی‌بیوتیک					تعداد (درصد) جدایه‌ها
	داکسی‌سایکلین	انروفلوکساسین	فلورفنیکل	لینکوسپکتین	سولتریم	
۱	R	R	R	S	S	۱۰ (۸/۳۳)
۲	R	R	S	S	S	۴ (۳/۳۳)
۳	R	S	R	S	R	۴ (۳/۳۳)
۴	R	R	S	S	R	۳ (۲/۵)
۵	S	R	S	R	R	۳ (۲/۵)

R :Resistant, S: Sensitive

بحث

کلی‌باسیلوز در تمام دنیا عامل اصلی بیماری، مرگ و میر و حذف لاشه در کشتارگاه‌های طیور می‌باشد و کلی‌سپتی‌سمی شایع‌ترین شکل کلی‌باسیلوز بوده و مسئول خسارت‌های اقتصادی چشم‌گیر در صنعت طیور است (۲). برای کنترل و پیش‌گیری از بیماری‌های طیور به ویژه کلی‌باسیلوز، دوزهای درمانی و تحت‌درمانی آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق آب و دان تجویز می‌گردد که اگرچه این اقدام باعث افزایش راندمان مواد غذایی و افزایش وزن‌گیری می‌شود (۳)، اما در صورت تجویز طولانی مدت آنتی‌بیوتیک‌ها، برخی از گونه‌های باکتری‌ها مقاوم می‌شوند و این مقاومت در نهایت منجر به عدم کارآیی آنتی‌بیوتیک می‌گردد (۱۴). Hart و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش کردند که دستگاه گوارش ماکیان محیطی مناسب برای انتقال ژن‌های کدکننده‌ی مقاومت دارویی از جدایه‌های مقاوم به جدایه‌های حساس *اشریشیا کلی* می‌باشد.

طی سال‌های اخیر پیدایش و شیوع *اشریشیا کلی* مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک به نگرانی بزرگی برای بهداشت عمومی جوامع بشری تبدیل گردیده است (۸). واقعیت امر این است که آلودگی مواد غذایی توسط باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک (نظیر *اشریشیا کلی*) می‌تواند تهدیدی جدی برای سلامت انسان باشد زیرا مشخص شده که ژن‌های کدکننده‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی روی عناصر ژنتیکی سیّار (نظیر پلاسمیدها) قرار گرفته‌اند و می‌توانند به باکتری‌های بیماری‌زای انسانی منتقل شوند (۲۳).

در مطالعه حاضر مجموعاً در دو روش ارزیابی، بیشترین مقاومت (بیش از ۹۰ درصد) نسبت به انروفلوکساسین مشاهده شد که تا حدودی با مطالعات مشابه انجام شده در سایر مناطق جغرافیایی ایران هم‌خوانی دارد. در مطالعه‌ی رفیعی‌طباطبایی و نصیریان (۲۰۰۳) در تهران، بیشترین مقاومت مربوط به تتراسایکلین (۹۴ درصد) و پس از آن سولتریم (۵۶ درصد) و انروفلوکساسین (۴۴ درصد) بوده است. در مطالعه زهرایی‌صالحی و فراشی‌بناب (۲۰۰۶) در تبریز نیز اگرچه بیشترین مقاومت (۸۸ درصد) مربوط به داکسی‌سایکلین بوده است، اما مقاومت در برابر انروفلوکساسین نیز (با ۷۶ درصد) در رتبه‌ی سوم قرار داشته است. در بررسی بزرگمهری‌فرد و همکاران

(۲۰۰۷) در مسجدسلیمان، بیشترین مقاومت (۵۴ درصد) در برابر انروفلوکساسین و پس از آن در برابر تتراسایکلین (۴۳ درصد) و سولتریم (۳۳ درصد) مشاهده گردید. در تحقیق صابرفر و همکاران (۲۰۰۸) روی جدایه‌های جمع‌آوری شده از سراسر کشور بیشترین مقاومت مربوط به تتراسایکلین (۹۶ درصد) و سپس لینکوسپکتین (۷۹ درصد) و انروفلوکساسین (۷۶ درصد) گزارش گردیده است. در بررسی Gregova و همکاران (۲۰۱۲) در اسلوواکی و Yang و همکاران در چین (۲۰۰۴) نیز بیشترین مقاومت جدایه‌های APEC نسبت به انروفلوکساسین گزارش گردیده است.

در مطالعه‌ی حاضر در مجموع در دو روش ارزیابی، کمترین مقاومت (حدود ۶۸ درصد) نسبت به لینکوسپکتین مشاهده شد. در مطالعه زهرایی‌صالحی و فراشی‌بناب (۲۰۰۶) در تبریز نیز کمترین مقاومت (۱۵ درصد) مربوط به لینکوسپکتین بوده است. در بررسی بزرگمهری‌فرد و همکاران (۲۰۰۷) در مسجد سلیمان، کمترین مقاومت (حدود ۱/۵ درصد) در برابر لینکوسپکتین مشاهده گردیده است. در تحقیق صابرفر و همکاران (۲۰۰۸) روی جدایه‌های جمع‌آوری شده از سراسر کشور اگرچه کمترین مقاومت مربوط به فلورفنیکل (۳۹ درصد) بوده است، اما مقاومت به لینکوسپکتین نیز ۷۹ درصد گزارش شده است که تا حدودی با مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. اختلاف ظاهری نتایج مطالعه‌ی حاضر با مطالعات یاد شده را می‌توان به تفاوت زمانی و مکانی و تفاوت در جدایه‌های مورد بررسی نسبت داد، اما آنچه از مقایسه‌ی نتایج مطالعه‌ی حاضر با بررسی‌های ذکر شده می‌توان یافت، افزایش مقاومت در برابر داکسی‌سایکلین، انروفلوکساسین، فلورفنیکل، لینکوسپکتین و سولتریم طی سال‌های اخیر است که می‌تواند به دلیل متداول بودن استفاده از این داروها در صنعت طیور باشد، چرا که مهم‌ترین عامل ظهور و گسترش میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در دامپزشکی و طب انسانی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد (۲۲). در یک مطالعه گذشته‌نگر توسط Tadesse و همکاران (۲۰۱۲) چنین نتیجه‌گیری شده است که مقاومت در برابر داروهایی که از نظر زمانی زودتر وارد بازار شده‌اند بیشتر از داروهایی است که دیرتر کشف و به بازار معرفی گردیده‌اند. مقاومت کمتر نسبت به لینکوسپکتین را شاید بتوان این گونه توجیه نمود که این دارو نسبت به سایر داروهای مورد استفاده در مطالعه‌ی حاضر، قیمت بالاتری در بازار داشته و در نتیجه تمایل مرغداران برای استفاده از آن کمتر می‌باشد، البته ممکن است ترکیبی بودن ساختار داروی فوق نیز در این امر دخیل باشد (۱۱). در مطالعه حاضر حدود ۹۰ درصد از جدایه‌ها به بیش از سه نوع آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش مقاوم بودند که با مطالعه صابرفر و همکاران (۲۰۰۸) هم‌خوانی دارد. Johnson و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش نموده‌اند که مقاومت دارویی چندگانه در کلی‌باسیلوز پرندگان پدیده‌ای شایع است.

در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری نمود که احتمالاً استفاده بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع پرورش طیور باعث افزایش گسترش مقاومت دارویی کلی‌باسیل‌ها می‌گردد. به طوری که اکثر جدایه‌ها (حدود ۹۰ درصد) به بیش از سه آنتی‌بیوتیک رایج در درمان کلی‌باسیلوز طیور مقاوم می‌باشند و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی کلی‌باسیل‌ها در آزمایشگاه‌های دامپزشکی می‌تواند راهنمای مناسبی برای دامپزشکان جهت انتخاب داروی مناسب باشد.

منابع

1. Astal, Z.E. (2005). Increasing Ciprofloxacin resistance among prevalent urinary tract

bacterial isolates in the Gaza Strip. *Singapore Medical Journal* **46**: 457-9.
2. Barnes, H.J., Nolan, L.K., Vaillancourt, J.P. (2008). *Colibacillosis* In: Saif Y.M., *et al*. (Ed) *Diseases of Poultry*. 12th edition, Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa: 691-716.
3. Bower, C.K., Daeschel, M.A. (1999). Resistance responses of microorganisms in food environments. *International. Journal of Food Microbiology* **50**: 33-44.
4- Bozorgmehri Fard, M.H., Karimi, V., Fathi, E., Behmanesh, R. (2007). Bacteriologic survey on infectious cellulitis in broiler chickens in Masjid Soleiman slaughterhouse, Iran. *Archives of Razi Institute* **62**: 91-95.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (2006). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard.* 7th Edition. CLSI document M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, USA.
6. Delicato, E.R., Brito, B.G., Gaziri, L.C.J., Vidotto, M.C. (2003). Virulence-associated genes in *Escherichia coli* isolates from poultry with colibacillosis. *Veterinary Microbiology* **94**: 97-103.
7. Gregova, G., Kmetova, M., Kmet, V., Venglovsky, J., Feher, A. (2012). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from a poultry slaughterhouse. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* **19**: 75-7.
8. Guerra, B., Junker, E., Schroeter, A., Helmuth, R., Guth, B.E., Beutin, L. (2006). Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* O111 isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **57:** 1210-4.
9. Harry, E.G., Hemsley, L.A. (1965). The association between the presence of septicaemia strains of *Escherichia coli* in the respiratory and intestinal tracts of chickens and the occurrence of colisepticaemia. *Veterinary Records* **77**: 35-40.
10. Hart, W.S., Heuzenroeder, M.W., Barton, M.D. (2006). A study of the transfer of Tetracycline resistance genes between *Escherichia coli* in the intestinal tract of a mouse and a chicken model. *Journal of Veterinary Medicine series B, Infectious Disease and Veterinary Public Health* **53**: 333-40.
11. Hirsh, D.C., Zee, Y.C. (1999). *Veterinary Microbiology*. Blackwell Science Inc, Massachusetts, USA: 28-45.
12. Johnson, J.R., Kuskowski, M.A., Smith, K., O'Bryan, T.T., Tatini, S. (2005). Antimicrobial-resistant and extra intestinal pathogenic *Escherichia coli* in retail foods. *Journal of Infectious Diseases* **191**: 1040-9.
13. Johnson, T.J., Skyberg, J., Nolan, L.K. (2004). Multiple antimicrobial resistance region of a putative virulence plasmid from an *Escherichia coli* isolate incriminated in avian colibacillosis. *Avian Diseases* **48**: 351-60.
14. Kilonzo-Nthenge, A., Nahashon, S.N., Chen, F., Adefope, N. (2008). Prevalence and antimicrobial resistance of pathogenic bacteria in chicken and Guinea Fowl. *Poultry Science* **87**: 1841-8.
15. Miranda, J.M., Vázquez, B.I., Fente, C.A., Barros-Velázquez, J., Cepeda, A., Franco, C.M. (2008). Evolution of resistance in poultry intestinal *Escherichia coli* during three commonly used antimicrobial therapeutic treatments in poultry. *Poultry Science* **87**: 1643-8.
16. Quednau, M., Ahrne, S., Petersson, A.C., Molin, G. (1998). Antibiotic resistant strains of *Enterococcus* isolated from Swedish and Danish retailed chicken and pork. *Journal of Applied Microbiology* **84**: 1163-70.
17. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., Carter, G.R. (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*. Elsevier, London: 209-25.
18. Rafiei Tabatabaei, R., Nasirian, A. (2003). Isolation, identification and antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from chicken flocks. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics* **2**: 39-42.
19. Saberfar, E., Pourakbari, B., Chabokdavan, K., Taj Dolatshahi, F. (2008). Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Iranian broiler chicken flocks, 2005-2006. *Poultry Science Association* **17**: 302-4.
20. Tadesse, A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M.J., McDermott, P.F. (2012). Antimicrobial drug resistance

in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerging Infectious Diseases* **5**: 741-9.

21. Turtura, G.C., Massa, S., Ghazvinizadeh, H. (1990). Antibiotic resistance among coliform bacteria isolated from carcasses of commercially slaughtered chickens. *International Journal of Food Microbiology* **11:** 351–354.
22. Van den Bogaard, A.E., London, N., Driessen, C., Stobberingh, E.E. (2001). Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **47**: 763-71.
23. Van, T.T., Chin, J., Chapman, T., Tran, L.T., Coloe, P.J. (2008). Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International Journal of Food Microbiology* **124**: 217-23.
24. Yang, H., Chen, S., White, D.G., Zhao, S., McDermott, P., Walker, R., Meng, J. (2004). Characterization of multiple-antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 3483-9.
25. Zahraei Salehi, T., Farashi Bonab, S. (2006). Antibiotics susceptibility pattern of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticemia in Tabriz province, Iran. *International Journal of Poultry Science* **5**: 677-84.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 11, Issue 2, 2015

Determination of antibiotic resistance patterns in *Escherichia coli* isolated from healthy and colisepticemic broiler chickens in Ahvaz

Jafari, R.[1], Ghanbarpour, R.[2], Ghorbanpour Najaf Abadi, M.[3], Mayahi, M.[4], Amani, A.[5*]

1. Clinical Sciences Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
2. Pathobiology Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
3. Pathobiology Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
4. Clinical Sciences Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
5. Clinical Sciences Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

Received Date: 17 June 2014 *Accepted Date: 30 September 2014*

Abstract: *The knowledge about antibiotic resistance of common bacterial pathogens in any region is essential. Colibacillosis is one of the most common bacterial diseases in poultry caused by Escherichia coli and is responsible for significant economic losses. The aim of this study was to investigate the antibiotic resistance profile in Escherichia coli isolates recovered from broiler chickens in Ahvaz. For this reason, a total of 120 isolates from 12 broiler farms, 60 isolates from livers of chickens with colibacillosis, and the rest from cloaca of healthy birds were collected. Antibiotic resistance pattern to Doxycycline, Enrofloxacin, Florfenicol, Lincospectin and Trimethoprim-Sulphadiazine, the five common antibiotics in poultry industry of Iran, was investigated. According to disk diffusion test, the maximum resistance was to Enrofloxacin (90.8%), Florfenicol (83.3%), Doxycycline (82.5%), Sultrim (74.2%), and Lincospectin (66.7%), respectively. In the minimum inhibitory concentration (MIC) method, the order was: Enrofloxacin (91.7%), Florfenicol (90%), Doxycycline (87.5%), Sultrim (71.7%), and Lincospectin (69.2%). The results showed that fecal isolates were more resistant than septicemic isolates ($p< 0.05$). No significant deference was demonstrated between the two methods (disc diffusion and MIC) ($p> 0.05$). Also, the results showed that 88.3% and 90% of isolates were resistant to more than three antibiotics in disc diffusion test and MIC methods, respectively. It is concluded that for treatment of poultry colibacillosis, antibiotic sensitivity test should be performed routinely.*

Keywords: *Escherichia coli, Broiler chickens, Antibiotic resistance, Minimum inhibitory concentration*

**Corresponding author: Amani, A*
Address: Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran. Tel: +988338276765
Email: a-amani@phdstu.scu.ac.ir & amiramani82@yahoo.com